

早期断奶对仔猪糖原含量以及肝脏糖异生和糖酵解相关基因表达的影响

杨 华¹ 易松强² 徐 娥³ 陈小敏¹ 戴宝玲¹ 肖英平^{1*}

(1.浙江省农业科学院农产品质量标准研究所, 杭州 310021; 2.江西省畜牧技术推广站, 南昌 330046; 3.贵州大学动物科学学院, 贵阳 550025)

摘 要: 本试验旨在探讨早期断奶对仔猪机体糖代谢的影响。选择 4 窝 18 日龄健康仔猪, 从每窝中各选 4 头共计 16 头仔猪, 称重后其中 4 头直接屠宰用于取样 (血液、肝脏、背最长肌), 另外 12 头进行断奶处理 (断奶组); 每窝剩余仔猪由母猪继续哺乳 (哺乳组)。在断奶后第 1 天、第 3 天和第 7 天从断奶组和哺乳组各取 4 头仔猪测定平均日增重、血清中葡萄糖和乳酸含量、肝脏和背最长肌中糖原含量以及肝脏中丙酮酸激酶活性与糖代谢相关基因的相对表达水平。结果表明: 与哺乳组仔猪相比, 在早期断奶阶段 (断奶后 1~7 d), 断奶组仔猪的平均日增重显著下降 ($P<0.05$); 在断奶后第 1 天、第 3 天和第 7 天, 断奶组仔猪血清中葡萄糖含量分别降低了 8.33% ($P>0.05$)、17.81% ($P<0.05$) 和 20.99% ($P<0.05$), 血清中乳酸含量分别上升了 16.83% ($P<0.05$)、22.75% ($P<0.05$) 和 12.06% ($P>0.05$), 肝糖原含量分别降低了 24.94% ($P<0.05$)、48.99% ($P<0.05$) 和 36.51% ($P<0.05$), 肌糖原含量分别降低了 44.49% ($P<0.05$)、39.68% ($P<0.05$) 和 25.52% ($P<0.05$); 断奶组仔猪肝脏糖酵解关键酶丙酮酸激酶活性及其基因相对表达水平在断奶后第 3 天和第 7 天均显著降低 ($P<0.05$), 而肝脏糖异生相关酶线粒体磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶 (断奶后第 1 天)、胞质磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶 (断奶后第 1 天、第 3 天和第 7 天) 和葡萄糖-6-磷酸酶的基因相对表达水平 (断奶后第 1 天和第 3 天) 均显著提高 ($P<0.05$)。由此可见, 早期断奶使得仔猪断奶后前期阶段血清葡萄糖含量、肝糖原和肌糖原含量降低, 肝脏的糖异生作用被激活而糖酵解作用被抑制以维持体内的糖代谢平衡。

关键词: 仔猪; 早期断奶; 糖原; 糖异生; 糖酵解

中图分类号: S816 文献标识码: A 文章编号:

随着现代养猪业的发展, 生产上通常对仔猪实行早期断奶以提升养殖效率^[1]。然而, 由于仔猪早期阶段消化道发育尚未完善, 消化液和消化酶分泌不足、胃肠道微生态区系不稳定和肠道免疫功能低下, 且断奶过程中仔猪还需要经受环境、心理及营养应激等因素的影响,

收稿日期: 2017-09-11

基金项目: 国家自然科学基金 (31402083); 浙江省自然科学基金重点项目 (LZ15C170001)

作者简介: 杨 华 (1972—), 男, 浙江绍兴人, 高级畜牧师, 硕士, 主要从事单胃动物营养研究。E-mail: yanghua@mail.zaas.ac.cn

*通信作者: 肖英平, 副研究员, E-mail: ypxiaozju@126.com

因此仔猪在早期断奶阶段机体能量代谢会发生一定的变化^[2]。

目前有研究表明，仔猪在早期断奶后，引起采食量的降低和应激，需要消耗体内的脂肪、糖类和蛋白质以供机体的代谢需要^[3]。同时，当动物处于应激状态时，应激系统的激活可导致动物行为和外周器官功能的变化，以提高机体对环境的适应能力，增加自身的生存机会^[4]。肝脏是应激系统的重要效应器官，也是能量供应和糖类物质代谢调控的重要器官，与生长、代谢和抗应激能力密切相关。Nafikov 等^[4]发现，新生仔猪通过肝脏糖异生产生的葡萄糖占总血糖的 70%，所以肝糖异生功能的改善对于仔猪血糖稳态的调节起着极其重要的作用。参与肝脏糖代谢调控的关键酶包括丙酮酸激酶（PK）、线粒体磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶（PEPCK-M）、胞质磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶（PEPCK-C）和葡萄糖-6-磷酸酶（G-6-P），其中丙酮酸激酶为肝脏糖酵解的关键酶，线粒体磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶、胞质磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶和葡萄糖-6-磷酸酶为肝脏糖异生的关键酶^[5-6]。仔猪早期断奶阶段机体代谢状况必然发生变化，然而其机体的糖类物质含量变化和肝脏糖代谢相关基因的表达水平变化仍然未知。因此，本试验拟研究早期断奶对仔猪机体糖类物质含量及肝脏糖代谢相关基因表达的影响，阐明仔猪早期断奶后机体糖代谢的变化，为仔猪早期断奶的营养调控奠定理论基础。

1 材料与方法

1.1 试验设计

选取 4 头经产母猪，每头母猪哺乳 12 头健康仔猪（杜长大），哺乳阶段母猪饲粮组成及营养水平见表 1。于仔猪 18 日龄阶段，从每窝仔猪中随机取 4 头仔猪，共计 16 头仔猪，进行如下处理：1）分别来自于不同窝的 4 头仔猪称重后直接用于屠宰取样，作为基础数据；2）另外 12 头进行断奶处理，为断奶组，饲养在与母猪栏环境相同的小栏中，饲喂配合饲料，其组成及营养水平见表 2。母猪正常哺乳剩余的仔猪，为哺乳组。在断奶后第 1 天、第 3 天和第 7 天（分别对应仔猪 19、21、25 日龄），从断奶组和哺乳组各取 4 头仔猪称重、采血后屠宰取样。试验期间自由饮水和采食。

表 1 哺乳母猪饲粮组成及营养水平（饲喂基础）

Table 1 Composition and nutrient levels of the diet for lactating sows (as feed basis) %				
原料 Ingredients	含量 Content	营养水平 Nutrient levels ²⁾	含量 Content	
玉米 Corn	67.00	粗蛋白质 CP	16.36	
豆粕 Soybean meal	15.00	消化能 DE/(MJ/kg)	14.18	
麦麸 Wheat bran	7.00	钙 Ca	1.11	

鱼粉 Fish meal	5.00	总磷 AP	0.66
大豆油 Soybean oil	2.50	有效磷 AP	0.49
磷酸氢钙 CaHPO ₄	1.20	赖氨酸 Lys	0.91
石粉 Limestone	1.00	蛋氨酸+半胱氨酸 Met+Cys	0.48
食盐 NaCl	0.30	苏氨酸 Thr	0.62
预混料 Premix ¹⁾	1.00		
合计 Total	100.00		

¹⁾ 预混料为每千克饲料提供 The premix provided the following per kg of the diet: Cu 200 mg, Fe 140 mg, Mn 45 mg, Zn 150 mg, I 0.3 mg, Se 0.3 mg, VA 5 000 IU, VD₃ 250 IU, VE 60 IU, VK 2 mg, VB₁ 10 mg, VB₆ 10 mg, VB₁₂ 0.04 mg, 泛酸 pantothenic acid 20 mg, 烟酸 nicotinic acid 50 mg, 叶酸 folic acid 1.50 mg, 生物素 biotin 0.26 mg。

²⁾粗蛋白质、钙、总磷为实测值，消化能、有效磷、赖氨酸、蛋氨酸+半胱氨酸、苏氨酸为计算值。CP, Ca, and TP were measured values, while DE, AP, Lys, Met+Cys and Thr were calculated values.

表 2 断奶仔猪饲料组成及营养水平（饲喂基础）

Table 2 Composition and nutrient levels of the diet for weanling piglets (as feed basis) %

项目 Items	含量 Content
原料 Ingredients	
玉米 Corn	58.00
豆粕 Soybean meal	22.50
膨化大豆 Extruded soybean	7.00
鱼粉 Fish meal	4.00
大豆油 Soybean oil	2.30
乳清粉 Whey powder	2.50
磷酸氢钙 CaHPO ₄	1.25
石粉 Limestone	0.65
食盐 NaCl	0.20
赖氨酸盐酸盐 Lys • HCl	0.25
沸石粉 Zeolite powder	0.35

预混料 Premix ¹⁾	1.00
合计 Total	100.00
营养水平 Nutrient levels ²⁾	
粗蛋白质 CP	20.26
消化能 DE/(MJ/kg)	14.17
钙 Ca	0.81
总磷 TP	0.66
有效磷 AP	0.49
赖氨酸 Lys	1.26
蛋氨酸+半胱氨酸 Met+Cys	0.67
苏氨酸 Thr	0.82

¹⁾ 预混料为每千克饲料提供 The premix provided the following per kg of the diet: Cu 200 mg, Fe 240 mg, Mn 40 mg, Zn 1 000 mg, I 0.4 mg, Se 0.35 mg, VA 17 500 IU, VD₃ 385 IU, VE 70 IU, VK₃ 3.36 mg, VB₁ 3.43 mg, VB₂ 8.75 mg, VB₆ 5.15 mg, 维生素 VB₁₂ 0.04 mg, 泛酸 pantothenic acid 17.15 mg, 烟酸 nicotinic acid 36 mg, 叶酸 folic acid 1.70 mg, 生物素 biotin 0.26 mg。

²⁾ 粗蛋白质、钙、总磷为实测值，消化能、有效磷、赖氨酸、蛋氨酸+半胱氨酸、苏氨酸为计算值。CP, Ca, and TP were measured values, while DE, AP, Lys, Met+Cys and Thr were calculated values.

1.2 样品采集

仔猪隔夜禁食 10 h，于分组处理后 0、1、3 和 7 d 分别从断奶组和哺乳组前腔静脉采集血液样本，于 4 °C 下 3 000×g 离心 10 min 得到血清，并屠宰取肝脏与背最长肌^[7-8]，于-80 °C 保存。

1.3 指标测定

1.3.1 生长性能指标测定

对仔猪进行称重，并依据试验不同时间点的体重计算平均日增重。

1.3.2 糖代谢相关物质含量和丙酮酸激酶活性测定

使用南京建成生物工程研究所的试剂盒分析血清中葡萄糖和乳酸含量、肝脏和背最长肌中糖原含量以及肝脏中丙酮酸激酶活性，操作按照相应的检测试剂盒说明书进行。

1.3.3 肝脏糖代谢相关基因表达分析

采用总 RNA 抽提试剂盒提取肝脏组织的总 RNA, Nano Drop 微量分光光度计测定 RNA 的纯度, 并以 OD_{260 nm}/OD_{280 nm} 评价 RNA 的纯度, 琼脂糖凝胶电泳检测 RNA 完整性。使用 Invitrogen 反转录试剂盒 Superscript™ II RTase 反转录 cDNA。

采用 Premier 6.0 和 Beacon designer 软件进行目的基因和 18S 内参基因引物的设计, 引物序列见表 2。采用 TaKaRa SYBR 实时荧光定量试剂盒 SYBR® Premix Ex Taq™ 进行基因的实时定量检测。实时荧光定量 PCR 扩增反应体系为 25 μL, 具体如下: ddH₂O 10.5 μL, SYBR Premix ex Taq™ (2×) 12.5 μL, 上、下游引物各 1 μL, cDNA 模板 1.0 μL。反应条件: 95 °C, 1 min; 45 个循环: 95 °C, 10 s; 62 °C, 25 s; 由 55 °C 上升到 95 °C, 每 5 s 上升 0.5 °C, 以制备熔点曲线。

表 2 目的基因和内参基因引物

Table 2 Primers of target genes and reference gene

基因 Genes	GenBank 登录号 GenBank accession No.	引物序列 Primer sequence	产物大小 Product size/bp
丙酮酸激酶 <i>PK</i>	XM_001926810	F:5'-GAGGAGTCTTCCCTGTGCTCTAC-3' R:5'-GCCACGGAGTTTTCCGCTTTCGA-3'	104
线粒体磷酸烯醇式丙酮酸 羧激酶 <i>PEPCK-M</i>	AY855076	F:5'-CATTCAGCATGGGTCC-3' R:5'-GATGCGAAGGGCAAAG-3'	323
胞质磷酸烯醇式丙酮酸羧 激酶 <i>PEPCK-C</i>	AY855075	F:5'-CGGGATTTTCGTGGAGA-3' R:5'-CCTCTTGATGACACCCTCT-3'	123
葡萄糖-6-磷酸酶 <i>G-6-P</i>	NM_001113445	F:5'-AAGCCAAGCGAAGGTGTGAGC-3' R:5'-GGAACGGGAACCACTTGCTGAG-3'	165
18S	NR_046261	F:5'-GCCCTATCAACTTTCGATGGTAGTC-3' R:5'-CCTTGATGTGGTAGCCGTTTCTCA-3'	113

目的基因的相对表达水平采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法进行计算^[7]。每个待测样品设置 3 个重复, 对得到的 3 个 Ct 值取算术平均值。

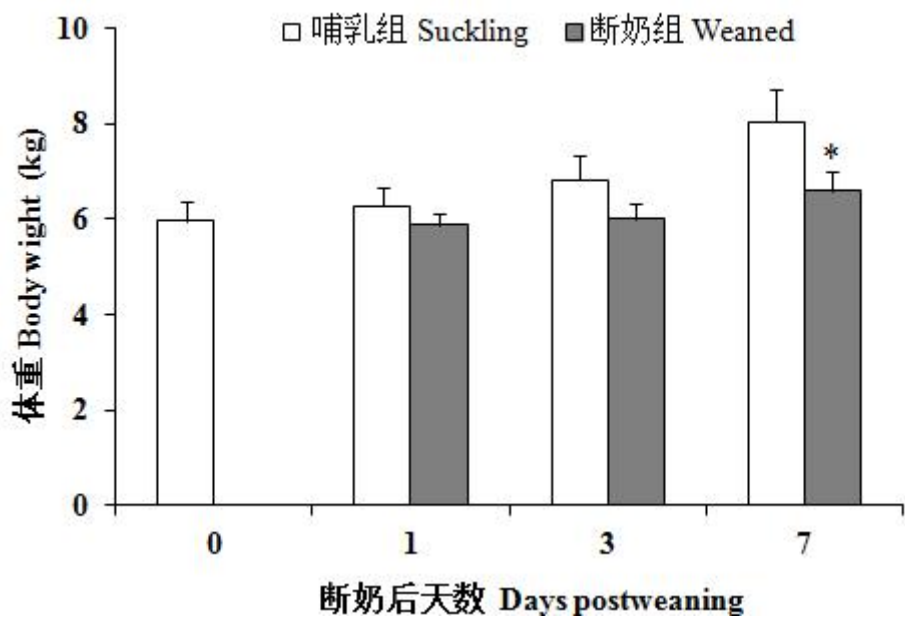
1.4 数据处理与分析

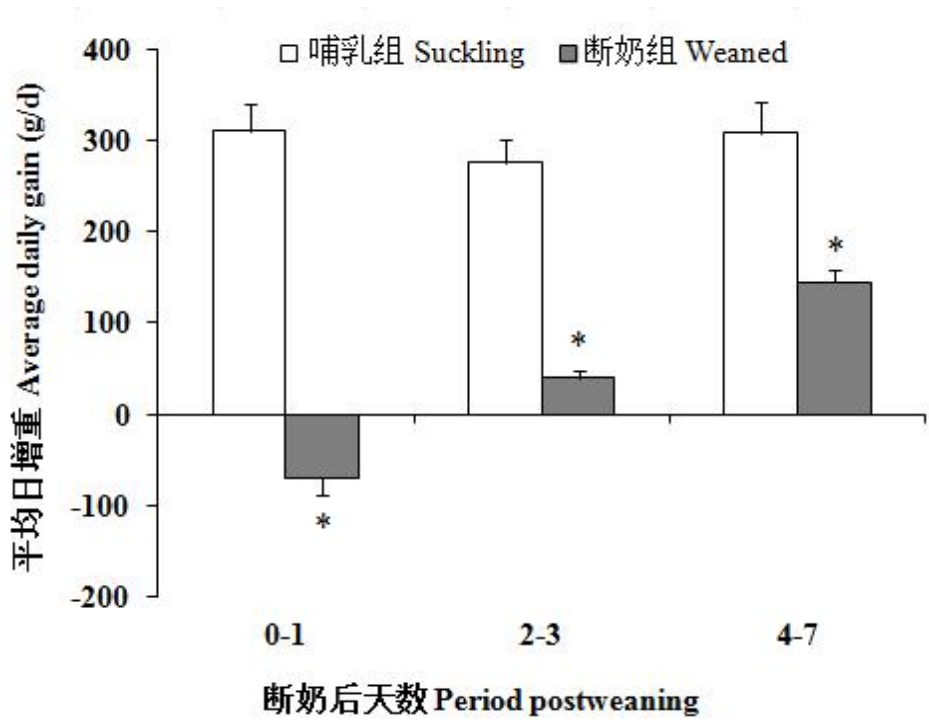
试验数据采用 SPSS 16.0 软件进行 *t* 检验分析, 结果以平均值±标准误表示, $P<0.05$ 为差异显著性水平。

2 结果与分析

2.1 早期断奶对仔猪生长性能的影响

如图 1 所示，早期断奶处理对仔猪的生长性能产生了一定的影响，尤其是断奶后第 1 天和第 3 天，体重呈负增长。在断奶后第 3 天和第 7 天，断奶组仔猪的体重分别比哺乳组仔猪减少了 11.89% ($P>0.05$) 和 16.16% ($P<0.05$)。在断奶后 0~1 d 和 2~3 d 阶段，断奶组仔猪的平均日增重分别为-70.01 和 40.07 g/d，较哺乳组仔猪显著降低 ($P<0.05$)；在断奶后 4~7 d 阶段，断奶组仔猪的平均日增重为 145.09 g/d，与哺乳组比较，其降低了 52.85% ($P<0.05$)。





断奶组数据柱标注*表示与哺乳组相比有显著差异 ($P<0.05$)。图 2 同。

Date columns in suckling group with * meant significant difference compared with suckling group ($P<0.05$). The same as Fig.2.

图 1 早期断奶仔猪和对应同日龄哺乳仔猪体重和平均日增重变化

Fig.1 Changes of body weight and average daily gain in early-weaned and age-matched suckling piglets

2.2 早期断奶对仔猪糖代谢相关物质含量的影响

由表 3 可知，与哺乳组仔猪比较，在断奶后第 1 天、第 3 天和第 7 天，断奶组仔猪血清中葡萄糖含量分别降低了 8.33% ($P>0.05$)、17.81% ($P<0.05$) 和 20.99% ($P<0.05$)。而对于葡萄糖的代谢产物乳酸而言，与哺乳组仔猪比较，在断奶后第 1 天和第 3 天，断奶组仔猪血清中乳酸含量分别上升了 16.83% ($P<0.05$) 和 22.75% ($P<0.05$)；断奶后第 7 天，断奶组仔猪血清中乳酸含量也略有升高，幅度为 12.06% ($P>0.05$)。对于断奶仔猪体内的糖原而言，肝糖原和肌糖原含量表现出相同的变化趋势。与哺乳组仔猪相比，在断奶后第 1 天、第 3 天和第 7 天，断奶组仔猪肝糖原含量分别降低了 24.94% ($P<0.05$)、48.99% ($P<0.05$) 和 36.51% ($P<0.05$)，肌糖原含量分别降低了 44.49% ($P<0.05$)、39.68% ($P<0.05$) 和 25.52% ($P<0.05$)。

表 3 早期断奶仔猪和对应同日龄哺乳仔猪糖代谢相关物质含量变化

Table 3 Changes of contents of metabolites related to glycometabolism in early-weaned and

age-matched suckling piglets									
		血 清 葡 萄 糖 Serum		血 清 乳 酸 Serum		肝 糖 原 Liver		肌 糖 原 Muscle	
断奶后天数		glucose/(mmol/L)		lactate/(mmol/L)		glycogen/(mg/g)		glycogen/(mg/g)	
Days	after	哺乳组	断奶组	哺乳组	断奶组	哺乳组	断奶组	哺乳组	断奶组
weaning/d		Suckling	Weaned	Suckling	Weaned	Suckling	Weaned	Suckling	Weaned
		group	group	group	group	group	group	group	group
0		7.32±0.42		14.33±1.02		7.79±0.44		2.59±0.22	
1		7.55±0.51	6.92±0.48	13.67±0.51	15.97±0.65*	8.06±0.14	6.05±0.78*	2.36±0.31	1.31±0.28*
3		7.28±0.39	5.98±0.28*	14.55±0.64	17.86±1.10*	9.94±1.13	5.07±0.66*	2.47±0.20	1.49±0.18*
7		7.48±0.25	5.91±0.47*	15.01±1.05	16.82±1.27	9.64±0.59	6.12±0.60*	2.86±0.30	2.13±0.17*

断奶组数据肩标*表示与哺乳组相比有显著差异 ($P<0.05$)。下表同。

Values in suckling group with * superscript meant significant difference compared with suckling group ($P<0.05$). The same as below.

2.3 早期断奶对仔猪肝脏糖代谢相关酶活性和基因表达的影响

如图 2 和图 3 所示，与哺乳组仔猪相比，断奶组仔猪肝脏丙酮酸激酶活性在断奶后第 3 天和第 7 天分别降低了 31.33% ($P<0.05$) 和 32.63% ($P<0.05$)，其基因的相对表达水平在断奶后第 3 天和第 7 天分别降低了 35.71% ($P<0.05$) 和 40.91% ($P<0.05$)。

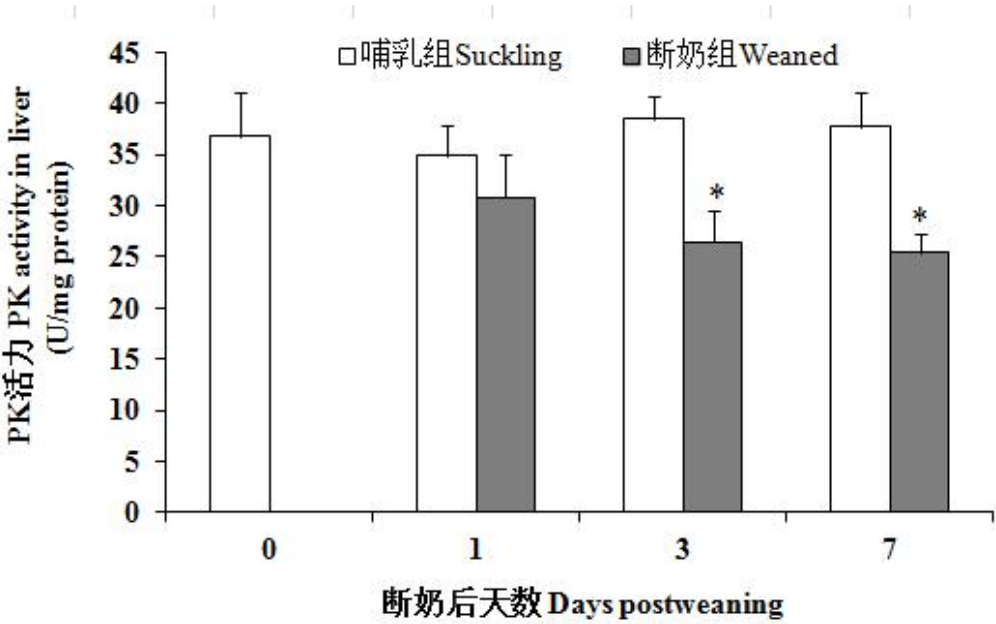
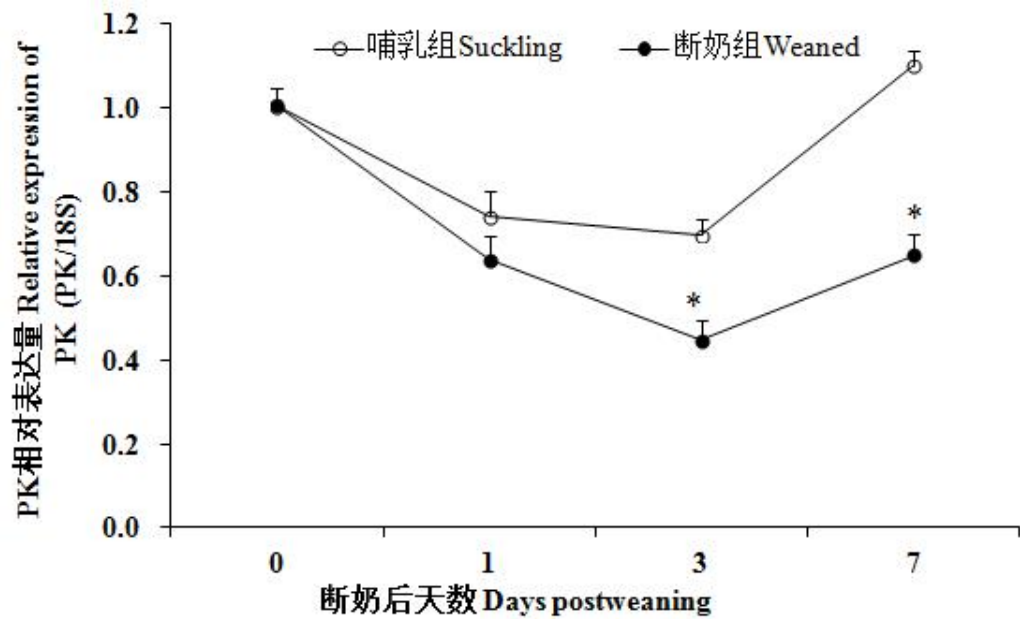


图 2 早期断奶仔猪和对应同日龄哺乳仔猪肝脏丙酮酸激酶活性变化

Fig.2 Change of PK activity in liver of early-weaned and age-matched suckling piglets



断奶组数据点标注*表示与哺乳组相比有显著差异 ($P<0.05$)。
Date points in suckling group with * meant significant difference compared with suckling group ($P<0.05$).

图3 早期断奶仔猪和对应同日龄哺乳仔猪肝脏丙酮酸激酶活性基因相对表达水平变化
Fig.3 Changes of relative expression level of *PK* gene in liver of early-weaned and age-matched suckling piglets

由表4可知,与哺乳组仔猪相比,断奶组仔猪肝脏线粒体磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶基因的相对表达水平在断奶后第1天提高了57.75%,且其肝脏胞质磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶基因的相对表达水平在断奶后第1天、第3天和第7天分别提高了65.57%、97.74%和68.60%,差异均达到显著水平 ($P<0.05$)。与哺乳组仔猪相比,断奶组仔猪肝脏葡萄糖-6-磷酸酶基因的相对表达水平在断奶后第1天和第3天均显著提高 ($P<0.05$),分别提高了67.57%和128.43%。

表4 早期断奶与对应同日龄哺乳仔猪肝脏线粒体磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶、胞质磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶和葡萄糖-6-磷酸酶基因相对表达水平变化

Fig.4 Changes of relative expression levels of *PEPCK-M*, *PEPCK-C* and *G-6-P* genes in liver of early-weaned and age-matched suckling piglets

断奶后天数		线粒体磷酸烯醇式丙酮酸羧		胞质磷酸烯醇式丙酮酸羧激		葡萄糖-6-磷酸酶	
Days	after	激酶 <i>PEPCK-M</i>		酶 <i>PEPCK-C</i>		<i>G-6-P</i>	
weaning/d		哺乳组	断奶组	哺乳组	断奶组	哺乳组	断奶组

	Suckling	Weaned	Suckling	Weaned	Suckling	Weaned
	group	group	group	group	group	group
0	1.01±0.06		1.02±0.04		1.01±0.09	
1	1.42±0.08	2.24±0.16*	1.22±0.08	2.02±0.16*	1.11±0.07	1.86±0.09*
3	1.26±0.07	1.53±0.18	1.33±0.0.9	2.63±0.19*	1.02±0.10	2.33±0.14*
7	0.93±0.04	1.05±0.08	0.86±0.05	1.45±0.09*	0.96±0.14	1.48±0.11

3 讨 论

早期断奶的仔猪由于受环境、心理及营养应激等因素的影响，常常会表现出一系列的不良症状，使生长迟滞和消化代谢紊乱^[9]。本研究表明，早期断奶可使仔猪的生长性能下降，特别是在断奶后的前 3 天，仔猪基本处于负增长状态。本课题组的前期研究也发现，在 21~28 日龄阶段，与哺乳仔猪比较，对 21 日龄断奶仔猪的体重和平均日增重分别下降了 16.53% 和 127.98%^[8]。导致此结果的原因可能是仔猪由摄食富含乳糖、乳蛋白和乳脂等易于消化的液态奶转变成摄食玉米-豆粕型固体饲料，营养物质的可消化性下降。研究发现，猪乳中的乳糖含量较高，在泌乳第 20 天时猪乳中乳糖含量高达 5.77 g/dL；同时，猪乳中含有丰富的易被肠道消化吸收谷氨酰胺、精氨酸、赖氨酸和缬氨酸等氨基酸以及精胺、亚精胺和腐胺等多胺物质^[10-11]，这些氨基酸对促进仔猪的肠道发育和维持肠黏膜的完整性具有重要的作用^[12]，而玉米-豆粕型固体饲料中这些相应的营养成分含量相差较大。另外，断奶应激本身可使得仔猪的采食量下降，并损伤仔猪肠道组织的形态结构，阻碍免疫系统和酶系统发育^[1-2]，干扰消化道微生态区系的平衡^[13]，使仔猪肠道的消化吸收性能受到影响。

断奶后的短时期内，仔猪小肠长度、重量、微绒毛高度、隐窝深度、黏膜屏障等肠道结构发生变化，同时小肠绒毛刷状缘消化酶活性和吸收能力降低，从而对肠道氨基酸和糖类的吸收能力产生影响^[8]。本课题组的前期研究发现，早期断奶后仔猪血清、肌肉和肝脏中的游离赖氨酸及血清中的必需氨基酸、苏氨酸含量显著降低^[7-8]。Hampson 等^[14]发现仔猪断奶后小肠中乳糖酶和蔗糖酶活性均显著降低，断奶后第 4~5 天时上述酶活性至少降低了 50%，此后小肠各个位点乳糖酶活性持续下降，而蔗糖酶活性在断奶后第 11 天才开始恢复。Pié 等^[15]指出 28 日龄断奶仔猪近端小肠蔗糖酶活性在断奶后第 1 天下降了 85%，远端小肠蔗糖酶活性在断奶后第 2 天与断奶后第 1 天比较，其活性下降了 30%。本研究发现，18 日龄早期断奶使仔猪血清葡萄糖含量降低，与哺乳仔猪相比，在断奶后的第 1 天、第 3 天和第 7 天，断奶仔猪肝糖原含量分别降低了 24.94%、48.99%和 36.51%，肌糖原含量分别降低了

44.49%、39.68%和 36.01%，与此相对应的是肌糖原的代谢产物乳酸含量升高。其原因是，在早期断奶过程中，仔猪摄入的碳水化合物、脂类等能量物质含量急剧减少^[16]，且处于烦躁状态的仔猪运动量加大，导致体内糖原分解供能。

肝脏糖代谢调节在动物饥饿状态下占据重要地位，主要是通过糖原分解和葡萄糖异生途径完成内源性葡萄糖产出过程^[17]。由于仔猪在出生后糖原很快被耗尽^[15]，肝糖异生作用对新生仔猪变得异常重要，是仔猪在断奶应激情况下的主要能量来源。磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶（PEPCK）主要存在于动物肝脏、肾脏与脂肪组织中，催化草酰乙酸转变成磷酸烯醇式丙酮酸与二氧化碳。磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶包括线粒体磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶和胞质磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶 2 个同工酶，分别位于细胞胞质和线粒体中，对血糖的稳定具有重要意义^[5]。本试验中，早期断奶后，断奶仔猪肝脏线粒体磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶、胞质磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶和葡萄糖-6-磷酸酶基因相对表达水平均有不同程度的升高，反映肝脏的糖原异生作用增强，以增加机体的葡萄糖含量，适应机体对葡萄糖代谢的需要^[6]。丙酮酸激酶作为糖酵解途径中最后一步限速酶，在糖酵解系统里，为催化形成第 2 个 ATP 反应的酶^[18]。本试验中，在断奶仔猪肝脏中，丙酮酸激酶的基因表达水平和活性均显著下降，表明糖酵解能力下降，可能是由于体内葡萄糖含量下降，阻止糖酵解的发生进而维持机体糖代谢的平衡。

4 结 论

仔猪在早期断奶阶段，机体能量摄入严重匮乏，由此血清中葡萄糖含量下降，导致机体动用肝脏和肌肉中的糖原，促进其分解供能，由此使得血清乳酸含量上升。同时，肝脏糖异生的相关酶磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶、葡萄糖-6-磷酸酶基因相对表达水平升高，糖酵解关键酶丙酮酸激酶基因相对表达水平和活性均降低，反映了仔猪早期断奶阶段通过增强肝脏的糖异生作用和减弱肝脏的糖酵解作用来维持体内的糖代谢平衡。

参考文献：

- [1] MOESER A J,KLOK C V,RYAN K A,et al.Stress signaling pathways activated by weaning mediate intestinal dysfunction in the pig[J].American Journal of Physiology : Gastrointestinal and Liver Physiology,2007,292(1):173–181.
- [2] WIJTEN P J,VAN DER MEULEN J,VERSTEGEN M W.Intestinal barrier function and absorption in pigs after weaning:a review[J].British Journal of Nutrition,2011,105(7):967–981.
- [3] 张文飞,刘莘莘,管武太,等.饲料中添加卵黄抗体对断奶仔猪生长性能、血清生化指标、

肠道形态及肠道微生物菌群的影响[J].动物营养学报,2017,29(1):271–279.

- [4] NAFIKOV R A,BEITZ D C.Carbohydrate and lipid metabolism in farm animals[J].The Journal of Nutrition,2007,137(3):702–705.
- [5] SHE P X,BURGESS S C,SHIOTA M,et al.Mechanisms by which liver-specific PEPCCK knockout mice preserve euglycemia during starvation[J].Diabetes,2003,52(7):1649–1654.
- [6] HANSON R W,GARBER A J.Phosphoenol pyruvate carboxykinase I :its role in gluconeogenesis[J].American Journal of Clinical Nutrition,1972,25(10):1010–1021.
- [7] 王龙生,杨华,代兵,等.早期断奶对仔猪血清、肌肉及肝脏氨基酸代谢的影响[J].中国畜牧杂志,2016,52(21):65–71.
- [8] XIAO Y P,WU T X,HONG Q H,et al.Response to weaning and dietary *L*-glutamine supplementation:Metabolomic analysis in piglet by gas chromatography/mass spectrometry[J].Journal of Zhejiang University Science B,2012,13(7):567–578.
- [9] JIAO L F,KE Y L,XIAO K,et al.Effects of cello-oligosaccharide on intestinal microbiota and epithelial barrier function of weanling pigs[J].Journal of Animal Science,2015,93(3):1157–1164.
- [10] WU G,KNABE D A.Free and protein-bound amino acids in sow's colostrum and milk[J].The Journal of Nutrition,1994,124(3):415–424.
- [11] CHENG Z B,LI D F,GE C R,et al.Polyamines in sow colostrum and milk at different stages of lactation[J].Animal Science,2006,82(1):95–99.
- [12] WANG J J,CHEN L X,LI P,et al.Gene expression is altered in piglet small intestine by weaning and dietary glutamine supplementation[J].The Journal of Nutrition,2008,138(6):1025–1032.
- [13] 孔祥杰,姜海龙,蔡维北,等.黄芪茎叶对断奶仔猪盲肠微生物区系的影响[J].中国畜牧杂志,2017,53(3):117–120,124.
- [14] HAMPSON D J,KIDDER D E.Influence of creep feeding and weaning on brush border enzyme activities in the piglet small intestine[J].Research in Veterinary Science,1986,40(1):24–31.
- [15] PIÉ S,LALLÈS J P,BLAZY F,et al.Weaning is associated with an upregulation of expression of inflammatory cytokines in the intestine of piglets[J].The Journal of Nutrition,2004,134(3):641–647.

- [16] XIAO Y P, LI X Y, WU T X, et al. Effects of dietary glutamine supplementation on nutrient absorption and activity of enzymes involved in glutamine metabolism and energy production in the jejunum of weaned piglets[J]. *Journal of Animal and Veterinary Advance*, 2012, 11(9): 1441–1449.
- [17] VAN POELJE P D, POTTER S C, CHANDRAMOULI V C, et al. Inhibition of fructose 1,6-bisphosphatase reduces excessive endogenous glucose production and attenuates hyperglycemia in Zucker diabetic fatty rats[J]. *Diabetes*, 2006, 55(6): 1747–1754.
- [18] LE DIVIDICH J, ESNAULT T, LYNCH B, et al. Effect of colostral fat level on fat deposition and plasma metabolites in the newborn pig[J]. *Journal of Animal Science*, 1991, 69(6): 2480–2488.

Effects of Early Weaning on Glycogen Concentration and Expression of Hepatic Genes Associated with Gluconeogenesis and Glycolysis in Piglets

YANG Hua¹ YI Songqiang² XU E³ CHEN Xiaomin¹ DAI Baoling¹ XIAO Yingping^{1*}

(1. *Institute of Quality and Standard for Agro-Products, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 310021, China*; 2. *Jiangxi Animal Husbandry Technology Extension Station, Nanchang 330046, China*; 3. *College of Animal Science, Guizhou University, Guiyang 550025, China*)

Abstract: The objective of this study was to elucidate the effects of early weaning on glycometabolism of piglets. Sixteen 18-day-old piglets were selected from 4 litters with each litter selecting 4 piglets. After weaning, four piglets were euthanized directly and serum, liver and longissimus muscle samples were collected, while the other 12 piglets were segregated from the sows as the weaned group. The rest of the piglets in the same litter continued being breastfed as suckling group. Four piglets were weighed on day 1, 3 and 7 postweaning in weaned group and age-match suckling group, respectively, and then used to measure the contents of glucose and lactate in serum, the content of glycogen in liver and *longissimus* muscle, the activity of pyruvate kinase and the relative expression level of genes associated glycometabolism in liver. The results showed that the average daily gain of piglets in weaned group was significantly decreased

*Corresponding author, associate professor, E-mail: ypxiaoju@126.com (责任编辑 菅景颖)

compared with suckling group at early weaning stage (1 to 7 days after weaning) ($P<0.05$). Compared with suckling piglets, serum glucose content of weaned piglets was decreased by 8.33% ($P>0.05$), 17.81% ($P<0.05$) and 20.99% ($P<0.05$) on day 1, 3 and 7 postweaning, respectively; whereas serum lactate content of weaned piglet was increased by 16.83% ($P<0.05$), 22.75% ($P<0.05$) and 12.06% ($P<0.05$), respectively. Additionally, the liver glycogen content of weaned piglets was decreased by 24.94% ($P<0.05$), 48.99% ($P<0.05$) and 36.51% ($P<0.05$), respectively; and muscle glycogen content of weaned piglets was decreased by 44.49% ($P<0.05$), 39.68% ($P<0.05$) and 25.52% ($P<0.05$), respectively. Compared with suckling piglets, the activity of pyruvate kinase, a key glycolytic enzyme, and its gene relative expression level in liver of weaned piglets were significantly decreased on day 3 and 7 postweaning ($P<0.05$), while the relative expression levels of glycogen related enzymes, such as mitochondrial phosphoenolpyruvate carboxykinase (day 1 postweaning), cytoplasmic phosphoenolpyruvate carboxykinase (day 1, 3 and 7 postweaning) and glucose-6 phosphatase (day 1 and 3 postweaning) in liver of weaned piglets were significantly increased ($P<0.05$). In conclusion, the contents of serum glucose, liver glycogen and muscle glycogen are decreased in piglets by early weaning, and the gluconeogenesis is activated and the glycolysis is suppressed in liver of early weaned piglets to ensure the balance of glycometabolism in body.

Key words: piglets; early weaning; glycogen; gluconeogenesis; glycolysis